مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۲، شماره ۳، سال ۱۳۹۵

تعیین خود و دگر(نا) سازگاری برخی ارقام گلابی آسیایی (*Pyrus serotina* Rehd.) و گلابی‌های اروپایی (*P. communis* L.) بومی ایران

Determination of Self and Cross-(In) Compatibility of some Asian Pear (*Pyrus serotina* Rehd.) and European Pear (*Pyrus communis* L.) Cultivars Native to Iran

عبدالطیف شیخی[1]، کاظم ارزانی[2] و محمود کوشش‌صبا[3]

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۴- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۲۱

چکیده

شیخی، ع.، ارزانی، ک. و کوشش‌صبا، م ۱۳۹۵. تعیین خود و دگر(نا) سازگاری برخی ارقام گلابی آسیایی (*Pyrus serotina* Rehd.) و گلابی‌های اروپایی (*P. communis* L.) بومی ایران. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲: ۴۰۰-۳۸۳.**

برای تعیین خود(نا)سازگاری و دگرناسازگاری ارقام گلابی آسیایی و اروپایی موجود در ایران، در این تحقیق طی دو آزمایش جداگانه نه رقم گلابی آسیایی و دو رقم گلابی اروپایی بومی ایران در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به مدت دو سال (۱۳۹۱ و ۱۳۹۲) در باغ کلکسیون دانشگاه تربیت مدرس تهران، مورد مطالعه قرار گرفتند. از روش‌های خود و دگرگرده‌افشانی‌های کنترل شده در مزرعه و به دنبال آن بررسی رشد لوله‌های گرده در طول خامه با میکروسکوپ فلوئورسنس استفاده شد. درصد تشکیل میوه در ۱۵، ۳۵ و ۷۵ روز بعد از تمام گل شمارش و محاسبه شد. برای بررسی چگونگی رشد لوله گرده، تعدادی گل ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی برداشت و در محلول فیکساتور اف. ای. ای. (FAA) تثبیت شدند. نتایج نشان داد که در آزمایش خودگرده‌افشانی در شمارش نهایی بیش‌ترین میزان تشکیل میوه مربوط به رقم KS9 (۷/۸۵ درصد) و کم‌ترین میزان مربوط به رقم سبری (صفر درصد) بود. نتایج حاصل از گرده‌افشانی‌های کنترل شده نشان داد که ارقام سبری، شاه‌میوه، KS7 و KS13 خودناسازگار و سایر ارقام مورد بررسی خودسازگار هستند. بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که ارقام KS6، KS12 و KS13 با یک‌دیگر سازگار هستند، زیرا در تلاقی‌های این ارقام با یک‌دیگر درصد تشکیل میوه در شمارش نهایی بیشتر از ۸/۹۸ بود و لوله‌های گرده حداکثر تا ۹۶ ساعت پس از گرده‌افشانی به انتهای خامه و تخمک رسیدند.

واژه‌های کلیدی: گلابی آسیایی، خودناسازگاری گامتوفیتی، گرده‌افشانی کنترل شده، میکروسکوپ فلوئورسنس، رشد لوله گرده.

نویسنده مسئول: arzani_k@modares.ac.ir تلفن: ۰۲۱۴۸۲۹۲۰۹۴

مقدمه

گلابی آسیایی [*Pyrus serotina* Rehd. (syn: *Pyrus pyrifolia*)] از زیر تیره مالوئیده (Maloideae) و از خانواده گل‌سرخیان (Rosaceae) بوده و نام‌های متداول آن گلابی آسیایی و گلابی ژاپنی است. گلابی‌های آسیایی اغلب دارای شکل گرد و بافت ترد و آبدار هستند. معمول‌ترین رنگ پوست در آن‌ها قهوه‌ای-طلایی است اما به رنگ سبز، زرد و یا حد واسط نیز دیده می‌شوند. با توجه به اهمیت گلابی آسیایی، در قالب طرح ملی، چند رقم گلابی آسیایی از کشور بلژیک وارد ایران شده که ارزیابی‌ها روی آن‌ها در دانشگاه تربیت مدرس در حال انجام است.

میوه‌دهی گلابی‌های آسیایی تحت تأثیر عوام لژنتیکی و محیطی قرار می‌گیرد، یک عامل ژنتیکی مهم خودناسازگاری است که در آن درخت قادر به باروری و تولید میوه با گرده خودی نیست. خودناسازگاری در خانواده گل سرخیان هومومورفیک و از نوع گامتوفیتیک بوده و به وسیله یک مکان ژنی چند آللی کنترل می‌شود و از عوامل مهم محدود کننده تولید میوه و خودباروری به شمار می‌آید (de Nettancourt, 1997). در این نوع ناسازگاری رشد لوله گرده دارای آلل مشابه در خامه با استفاده از ریبونوکئاز (S-RNase) اختصاصی هاپلوتایپ که محصول لوکوس- S (S-locus) است، باز داشته خواهد شد (Mc Cubin and Kao, 2000). در خودناسازگاری گامتوفیتی (GSI) ناسازگاری بین ارقام به وسیله یلوکوس-S تعیین می‌شود که دارای یک ژن RNase (S-RNase) و یک ژن F-box به نام SLF (S-locus F-box) یا SFB (S-haplotyp-specific Fbox) است (Ushijima *et al.,* 2003؛ Entani *et al.,* 2003)، اثر ژن S-RNase در خامه و اثر ژن SLF/SFB در دانه گرده بیان می‌شود (Kao and Tsukuma, 2004).

برای درختان میوه دارای مکانیسم خودناسازگاری مانند گلابی آسیایی، گرده‌افشانی مصنوعی با دانه گرده سازگار یا کاشت ارقام گرده دهنده سازگار برای تضمین تولید پایدار محصول، ضروری است (Kato *et al.,* 2012) بنابراین لازم است تا خود و دگر(نا)سازگاری تمامی ارقام گلابی آسیایی، مورد مطالعه قرار گیرد. محققین زیادی از روش‌های مختلف نظیر گرده‌افشانی‌های کنترل شده و بررسی رشد لوله گرده در طول خامه به وسیله میکروسکوپ فلورسنس برای بررسی خودناسازگاری در گلابی آسیایی (Mousavi *et al.,* 2012)، به ژاپنی (Kaufmane and Rumpunen, 2002)، زردآلو (Gharehsheykhbayat, 2011؛ Austin *et al.,* 1998؛ Hajilou *et al.,* 2006)، آلو (Nikolić and Milatović, 2010)، بادام (Momenpour, 2012؛ Alizadeh-Salteh *et al.,* 2012؛

(Sharafi *et al.*, 2010) و گیلاس (Rasouli and Arzani, 2010؛ Mahmoudi *et al.*, 2007؛ Rasouli *et al.*, 2010) استفاده کرده‌اند. امروزه با استفاده از روش‌های مولکولی و بیوشیمیایی نظیر تجزیه گلیکوپروتئین‌های خامه (S-RNase) (Hiratsuka and Zhang, 2002؛ Sassa *et al.*, 1993) و روش‌های مبتنی بر PCR (Sassa *et al.*, 1992؛ Broothaerts *et al.*, 1995؛ Janssens *et al.*, 1995؛ Bošković *et al.*, 1997؛ Tomimoto *et al.*, 1996؛ Gu *et al.*, 2009؛ Zhang *et al.*, 2007؛ Gharehaghaji *et al.*, 2014) می‌توان با دقت بالایی نوع S-آلل‌هایارقام مختلف را تعیین کرد. با این حال یکی از مهم‌ترین روش‌های بررسی خودناسازگاری و تأیید نتایج آزمایش‌های آزمایشگاهی (*in-vitro*)، روش‌های مزرعه‌ای (*in-vivo*) مانند گرده‌افشانی‌های کنترل شده و به دنبال آن آنالیز میکروسکوپی رشد لوله گرده در خامه یا آنالیز تشکیل میوه و تشکیل بذر است. زراعتگر و همکاران (Zeraatgar *et al.*, 2012) در تلاقی‌های دوطرفه‌ای که بین ارقام گلابی بومی و رقم بارتلت انجام دادند نتیجه گرفتند که رقم درگزی با ۱۰/۲، ۵/۱ و ۰/۸۶ درصد باروری به ترتیب بیش‌ترین میزان تشکیل میوه را برای ارقام سبری، شکری و نطنزی به همراه داشت.پژوهش حاضر به منظور بررسی وضعیت میوه‌دهی و تعیین خود و دگر(نا)سازگاری ارقام مختلف گلابی آسیایی و برخی ارقام بومی پرورش یافته در ایران و همچنین مطالعه رشد لوله گرده در آن‌ها به وسیله ی میکروسکوپ فلوئورسنس، طی دو آزمایش جداگانه انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

برای مطالعه خود و دگر(نا)سازگاری، از یازده رقم گلابی شامل نه رقم گلابی آسیایی KS6، KS7، KS8، KS9، KS10، KS11، KS12، KS13 و KS14 و دو رقم گلابی بومی ایران، شاه‌میوه و سبری کشت شده در باغ تحقیقاتی گلابی آسیایی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، استفاده شد.

روش انجام آزمایش

این پژوهش در دو سال ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲در قالب دو آزمایش جداگانه یکی برای تعیین خود(نا)سازگاری یازده رقم گلابی و دیگری برای تعیین دگر(نا)سازگاری سه رقم KS6، KS12 و KS13 انجام شد. آزمایش اول با یازده تیمار (ارقام) و چهار تکرار در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی روی ۴۴ درخت انجام شد. هر درخت به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد و روی هر درخت دو شاخه یکی در جهت شمال و دیگری در جهت جنوب و ترجیحاً در قسمت میانی تاج درخت انتخاب شدند. آزمایش دوم نیز در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با نه تیمار (تلاقی‌ها) و

چهار تکرار انجام شد. در آزمایش دوم تلاقی‌های سه رقم KS12،KS6 وKS13 در تمامی ترکیبات ممکن، تیمارهای آزمایش بودند. عمل شمارش تعداد میوه تشکیل شده و محاسبه درصد تشکیل میوه در هر تلاقی در سه مرحله و به ترتیب ۱۵، ۳۵ و ۷۵ روز پس از گرده‌افشانی انجام شد. اولین شمارش به عنوان تلقیح اولیه و شمارش دوم و سوم به عنوان میزان نهایی تشکیل میوه مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه آماری داده‌ها به صورت تجزیه مرکب با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد انجام شد. درصد تشکیل میوه در هر تیمار به عنوان معیاری جهت تعیین خود و دگر(نا)سازگاری در نظر گرفته شد.

آزمون جوانه‌زنی دانه گرده

برای تهیه دانه گرده از ارقام مورد نظر گل‌های هریک از ارقام به طور جداگانه در مرحله بالونی چند روز قبل از انجام آزمایش تهیه شدند، برای این منظور بساک پرچم‌ها از گل‌ها جدا شده و در دمای اتاق روی تکه ای کاغذ خشک شدند. دانه‌های گرده، ۲۴ ساعت بعد، به وسیله یک مش دو میلی‌متری جدا و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شدند. برای اطمینان از زنده بودن و قابلیت جوانه‌زنی، دانه‌های گرده جمع‌آوری شده در محیط کشت دارای ۱۵ درصد ساکارز، ۲۰ پی‌پی‌ام بوریک اسید و ۱/۲۱۹ میلی‌مولار کلسیم نیترات و ۱ درصد آگار درون تشتک پتری کشت شدند (Knox *et al.,* 1986)و پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده محاسبه شد، بدین‌صورت که بر روی هر تشتک پتری پنج ناحیه مجزا در زیر بینوکولار مشخص شده و میانگین درصد جوانه‌زنی این ۵ ناحیه به عنوان درصد جوانه‌زنی دانه گرده در آن تشتک پتری در نظر گرفته شد. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی (CRD) با یازده تیمار (ارقام) و سه تکرار انجام شد.

گرده‌افشانی‌های کنترل شده

برای انجام گرده‌افشانی‌های کنترل شده در هر دو آزمایش، شاخه‌های دارای جوانه گل کافی (به تعداد صد گل) انتخاب شدند. و برای جلوگیری از گرده‌افشانی‌های ناخواسته، شاخه‌های مورد نظر قبل از باز شدن گل‌ها به وسیله کیسه‌های پارچه‌ای ململ پوشانده شدند. در آزمایش اول گرده‌افشانی با گرده‌های تازه، یک روز پس از شکوفایی گل‌ها و بدون اخته کردن انجام شد. در آزمایش دوم گل‌ها یک روز قبل از شکوفایی اخته شدند و ۴۸ ساعت بعد با استفاده از گرده تیمارهای مورد نظر گرده‌افشانی شدند. تعداد گل‌های گرده‌افشانی شده روی هر شاخه برای محاسبه درصد تشکیل میوه شمارش و ثبت شد.

مشاهدات میکروسکوپی

برای بررسی رشد لوله گرده در طول خامه در هر دو آزمایش، از هر تیمار در روزهای مختلف (۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از عمل گرده‌افشانی) گل‌هایی برداشت شده و به مدت ۲۴ ساعت در محلول فیکساتور FAA (فرمالدئید ۴۰ درصد، استیک اسید گلاسیال و اتانول ۷۰ درصد به نسبت ۱۸:۱:۱) تثبیت شدند. سپس گل‌ها از محلول FAA خارج شده و پس از چند بار شستشو، در اتانول ۷۰ درصد و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال تا زمان مطالعات بعدی نگهداری شدند. برای رنگ‌آمیزی لوله گرده به منظور بررسی با میکروسکوپ فلورسنس، گل‌های تثبیت شده، در آب مقطر شسته شده و سه بار آبشویی شدند و برای نرم شدن به مدت ۲۴ ساعت در سدیم هیدروکسید ۸ نرمال در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در محلول آنیلین بلو ۰/۱ درصد در فسفات بافر ۰/۱ مولار با pH=۱۱ رنگ‌آمیزی شدند. نمونه‌ها پس از رنگ‌آمیزی، بین لام و لامل قرار گرفته، به آرامی له شده و با میکروسکوپ فلوئورسنس (Olympus Bx51) مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

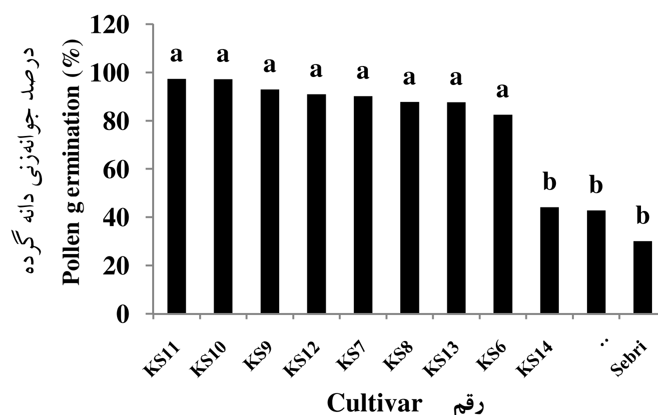
جوانه‌زنی دانه گرده

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به جوانه‌زنی دانه های گرده در شرایط درون شیشه‌ای، نشان داد که بین ارقام اختلاف بسیار معنی‌داری وجود داشت. رقم KS11 با ۹۷/۳۲ درصد بیش‌ترین و رقم سبری با ۳۰/۰۸ درصد کم‌ترین جوانه‌زنی را داشتند (شکل ۱). بنابراین دانه‌های گرده برداشت شده برای انجام آزمایش‌های خودگرده‌افشانی و دگرگرده‌افشانی مناسب بودند. لازم به ذکر است که برای انجام این آزمایش از دانه‌های گرده ذخیره شده به مدت یک ماه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

خودگرده‌افشانی

بعد از انجام عمل خودگرده‌افشانی در ارقام گلابی مورد بررسی، درصد تشکیل میوه در سه مرحله ۱۵، ۳۵ و ۷۵ روز پس از تمام گل در هر دو سال آزمایش شمارش و محاسبه شد. اولین شمارش به عنوان تلقیح اولیه و شمارش سوم به عنوان میزان تشکیل نهایی میوه مورد ارزیابی قرار گرفت. بین تیمارهای خودگرده‌افشانی در سال‌های مختلف آزمایش اختلاف معنی‌داری وجود داشت به طوری که بیش‌ترین میزان تشکیل میوه در رقم KS9 در سال اول آزمایش با ۳۲/۰۳ درصد و کم‌ترین میزان تشکیل میوه در ارقام شاه‌میوه و سبری در سال دوم آزمایش با میانگین صفر درصد مشاهده شد (شکل ۲).

نتایج مربوط به داده‌های شمارش دوم نشان داد که بین تیمارهای خودگرده‌افشانی اختلاف معنی‌داری وجود داشت و ارقام از نظر درصد تشکیل میوه و خودناسازگاری اختلاف زیادی با هم داشتند. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که

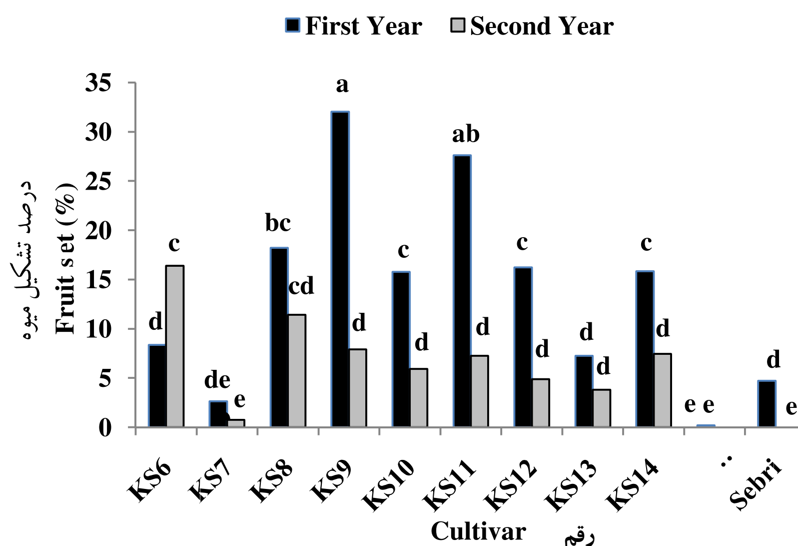


شکل ۱- درصد جوانه‌زنی دانه گرده در یازده رقم گلابی

ستون‌ها با حروف مشابه، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد ندارند

Fig. 1. Pollen germination percentage of eleven pear cultivars

Bars with similar letters are not significantly different at 1% probability level.



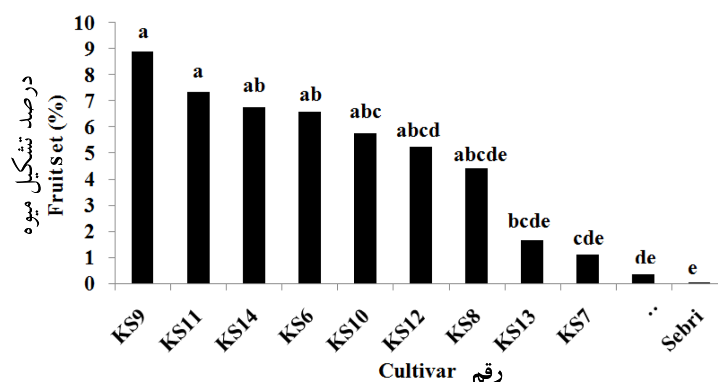
شکل ۲- درصد تشکیل میوه در شمارش اول بعد از خودگرده‌افشانی ارقام مختلف گلابی، ۱۵ روز پس از تمام گل

ستون‌ها با حروف مشابه، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱درصد ندارند

Fig. 2. Fruit set of pear cultivars after self-pollination at the first record, 15 days after full bloom

Bars with similar letters are not significantly different at 1% probability level.

در ایــن شــمارش رقــم KS9 بــا ۸/۹ درصــد، بیشترین و رقم سبری بـا ۰/۰۵ درصـد کمتـرین میزان تشکیل میوه را داشتند (شکل ۳). میانگین درصد تشکیل میوه در یازده رقم مـورد بررسـی



شکل ۳- درصد تشکیل میوه در شمارش دوم بعد از خودگرده‌افشانی ارقام مختلف گلابی، ۳۵ روز پس از تمام گل

ستون‌ها با حروف مشابه، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱درصد ندارند.

Fig. 3. Fruit set of Pear cultivars after self-pollination at the second record, 35 days after full bloom

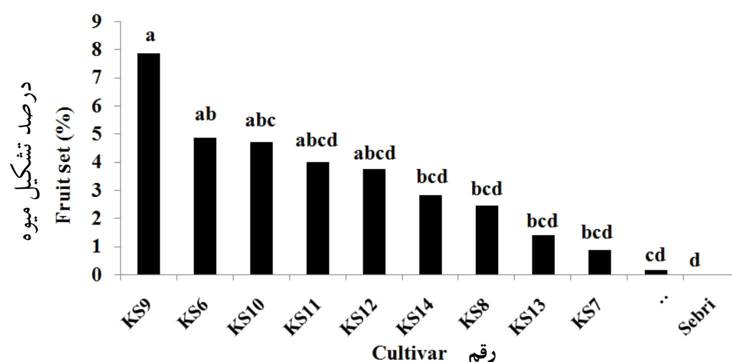
Bars with similar letters are not significantly different at 1% probability level.

در شمارش دوم ۴/۳۷ درصد بود.

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که رقم KS9 با ۷/۸۵ درصد، بیشترین و رقم سبری با صفر درصد، کمترین میزان تشکیل میوه را در شمارش سوم آزمایش خودگرده‌افشانی داشتند (شکل ۴). میانگین درصد تشکیل میوه در یازده رقم گلابی مورد بررسی در شمارش سوم ۲/۹۸ درصد بود. همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود میانگین تشکیل میوه در سال اول در شمارش‌های اول، دوم و سوم به ترتیب ۱۳/۵۳، ۵/۴۲ و ۳/۹۷ درصد و در سال دوم به ترتیب ۵/۹۸، ۳/۳۳ و ۲ درصد بود. میزان تشکیل میوه در سال اول در تمام شمارش‌ها بیشتر از سال دوم آزمایش بود.

دگرگرده‌افشانی

شمارش و محاسبات تشکیل میوه در آزمایش دگرگرده‌افشانی، همانند آزمایش خودگرده‌افشانی انجام شد. داده‌های هر دو سال آزمایش از توزیع نرمال برخوردار بودند. پس از آزمون همگنی واریانس خطاهای آزمایشی به روش بارتلت، تجزیه آماری داده‌ها به روش تجزیه مرکب انجام شد. نتایج نشان داد که در آزمایش دگرگرده‌افشانی در شمارش اول بین تیمارهای مختلف در سال‌های مختلف آزمایش، از نظر درصد تشکیل میوه اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیشترین میزان تشکیل میوه در شمارش اول مربوط به گرده‌افشانی رقم KS6 با دانه گرده رقم KS13 در سال اول آزمایش، با ۹۰/۸۸ درصد و کمترین میزان تشکیل میوه در شمارش اول در آزمایش دگرگرده‌افشانی در گرده‌افشانی رقم KS13 با دانه گرده رقم KS6 (۴۷/۳۵) در سال دوم آزمایش اتفاق افتاد (شکل ۶).

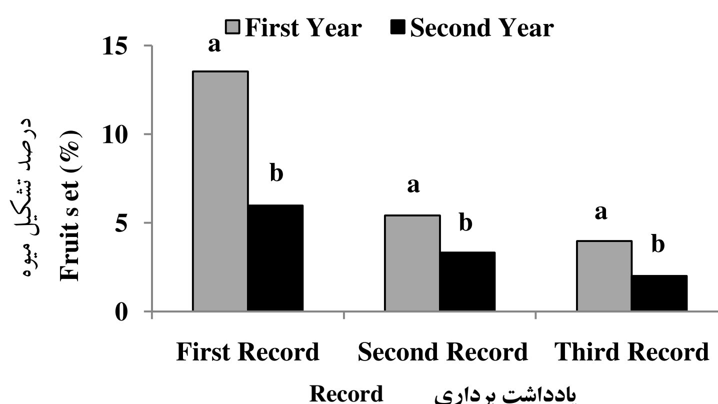


شکل ۴- درصد تشکیل میوه در شمارش سوم بعد از خودگرده‌افشانی ارقام مختلف گلابی، ۷۵ روز پس از تمام گل

ستون‌ها با حروف مشابه، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱درصد ندارند.

Fig. 4. Final fruit set of pear cultivars after self-pollination recorded 75 days after full bloom

Bars with similar letters are not significantly different at 1% probability level.



شکل ۵- درصد تشکیل میوه در سال‌های اول دوم آزمایش خودگرده‌افشانی ارقام گلابی

شمارش‌های اول، دوم و سوم به ترتیب ۱۵، ۳۵ و ۷۵ روز پس از تمام گل انجام شد.

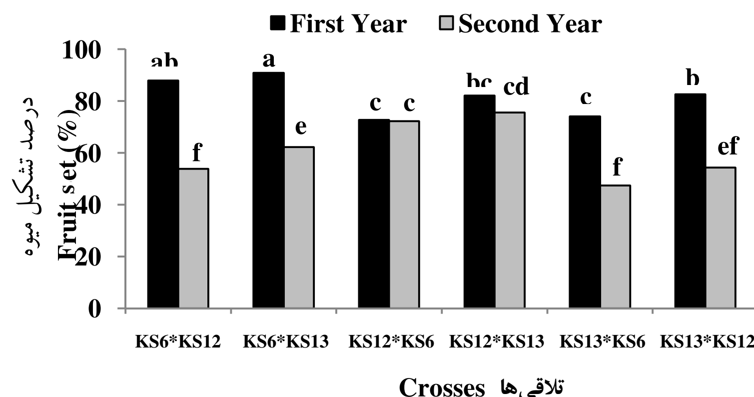
میانگین‌های هر شمارش به صورت جداگانه مقایسه شده‌اند، در شمارش اول ستون‌ها با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد و در شمارش دوم و سوم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد دارند.

Fig. 5. Fruit set percentage of pear cultivars at the first and second years of self-incompatibility experiment

First, second and third records, were 15, 35 and 75 days after full bloom.

Means of fruit set in each record were compared independently. In the first record columns with different letters have significant differences at 1% probability level and in the second and third records columns with different letters have significant differences at 5% probability level.

نتایج مقایسه میانگین‌ها در آزمایش دگرگرده‌افشانی در شمارش دوم نشان داد که بین درصد تشکیل میوه در سال اول و دوم روی رقم KS12 با استفاده از گرده‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و این رقم کمتر تحت تأثیر محیط قرار گرفته و عملکرد



شکل ۶- درصد تشکیل میوه ارقام مختلف گلابی آسیائی در شمارش اول در سال‌های مختلف آزمایش دگرگرده‌افشانی، ۱۵ روز پس از تمام گل

رقم سمت چپ پایه مادری (♀) و رقم سمت راست پایه پدری (♂).

ستون‌ها با حروف مشابه، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱درصد ندارند.

Fig. 6. Fruit set of Asian pear cultivars after cross-pollination at the first record, 15 days after full bloom

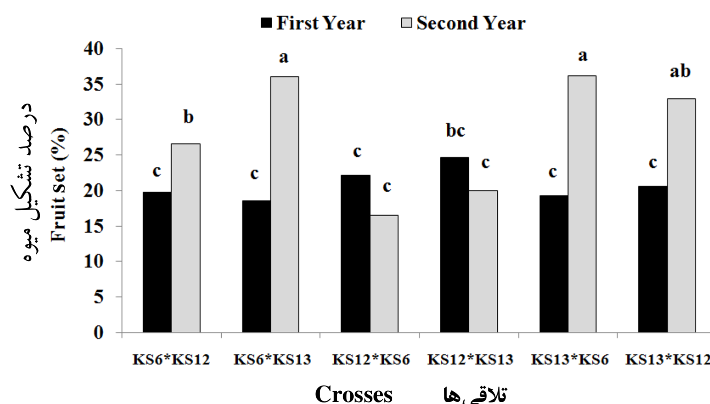
Cultivars at the left are maternal (♀) and cultivars at the right are male (♂) parents.
Bars with similar letters are not significantly different at 1% probability level.

پایدارتری را در شرایط مختلف نشان داد. در شمارش دوم، بیشترین میزان تشکیل میوه در گرده‌افشانی رقم KS13 با گرده‌های رقم KS6 در سال دوم با ۳۶/۱۷ درصد بود و کمترین میزان تشکیل میوه در شمارش دوم مربوط به گرده‌افشانی رقم KS12 با گرده رقم KS6 در سال دوم با ۱۶/۵ درصد بود (شکل ۷).

نتایج مقایسه میانگین‌ها در آزمایش دگرگرده‌افشانی در شمارش سوم، اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان داد. در شمارش سوم، تیمار دگرگرده افشانی KS6♀×KS13♂ با ۲۲/۲۳ درصد، بیشترین میزان تشکیل میوه را داشت. تیمار دگرگرده‌افشانی KS12♀×KS13♂ نیز با ۸/۹۸ درصد کمترین میزان تشکیل میوه را داشت (شکل ۸).

رشد لوله گرده در خامه با میکروسکوپ فلوئورسنس

نتایج حاصل از بررسی رشد لوله گرده با میکروسکوپ فلوئورسنس نشان داد که در آزمایش خودگرده‌افشانی در کلیه ارقام، رشد لوله گرده تا ۱۲۰ ساعت پس از خود گرده‌افشانی در یک سوم میانی و انتهایی خامه متوقف شده بود (شکل‌های ۹ و ۱۰). بررسی نمونه‌های حاصل از آزمایش دگرگرده‌افشانی نیز نشان داد که در همه تلاقی‌های سه رقم KS6، KS12 و KS13، لوله گرده حداکثر ۹۶ ساعت پس از دگرگرده‌افشانی به انتهای خامه رسیدند (شکل ۱۱).



شکل ۷- درصد تشکیل میوه ارقام مختلف گلابی آسیایی در شمارش دوم در سال‌های مختلف آزمایش دگرگرده‌افشانی، ۳۵ روز پس از تمام گل

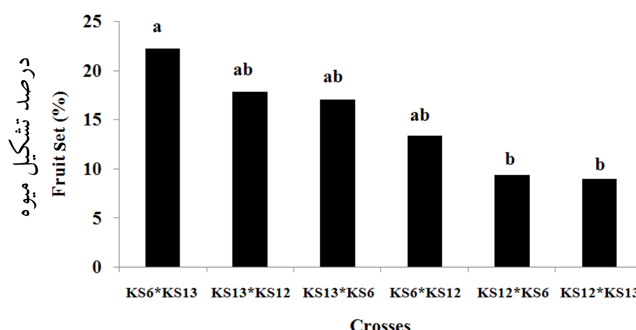
رقم سمت چپ پایه مادری (♀) و رقم سمت راست پایه پدری (♂).

ستون‌ها با حروف مشابه، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱درصد ندارند.

Fig. 7. Fruit set of Asian pear cultivars after cross-pollinations at the second record, 35 days after full bloom

Cultivars at the left are maternal (♀) and cultivars at the right are male (♂) parents .

Bars with similar letters are not significantly different at 1% probability level.



شکل ۸- درصد تشکیل میوه ارقام مختلف گلابی آسیایی در شمارش سوم در آزمایش دگرگرده‌افشانی، ۷۵ روز پس از تمام گل. رقم سمت چپ پایه مادری (♀) و رقم سمت راست پایه پدری (♂)

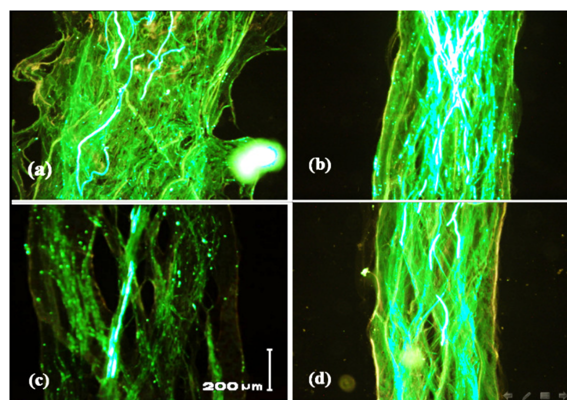
ستون‌ها با حروف مشابه، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱درصد ندارند.

Fig. 8. Final fruit set of Asian pear cultivars after cross-pollination at the third record, 75 days after full bloom

Cultivars at the left are maternal (♀) and cultivars at the right are male (♂) parents.

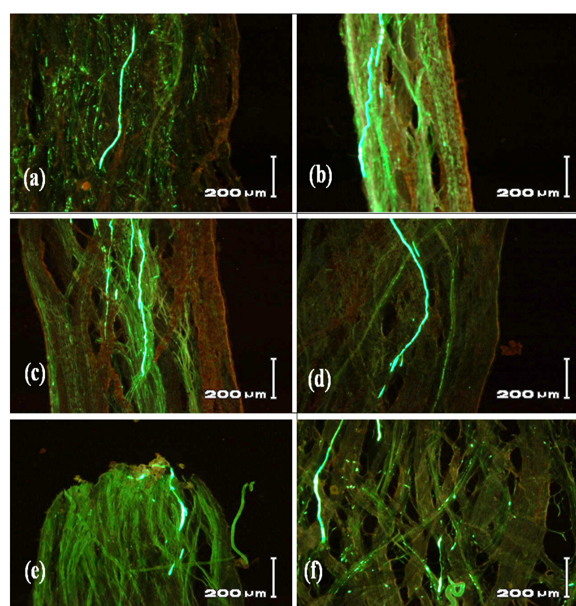
Bars with similar letters are not significantly different at 1% probability level.

به هنگام احداث یک باغ، لازم است که ارقام سازگار و دارای هم‌پوشانی گلدهی انتخاب شوند. سازگار بودن از نظر ژنتیکی و آلل‌های خودناسازگاری و هم زمانی در گلدهی با رقم اصلی، از عوامل مهم برای انتخاب درخت گرده‌زا هستند (Nyéki and Buban, 1996). در درختان میوه باردهی علاوه بر خودناسازگاری تحت تأثیر عوامل زیادی مانند شرایط محیطی، وضعیت فیزیولوژیکی درخت و سایر عوامل قرار



شکل ۹- توقف لوله گرده در یک سوم میانی خامه، ۱۲۰ ساعت پس از خودگرده افشانی در ارقام گلابی KS6 (a)، KS7 (b)، KS10 (c) و KS11 (d)

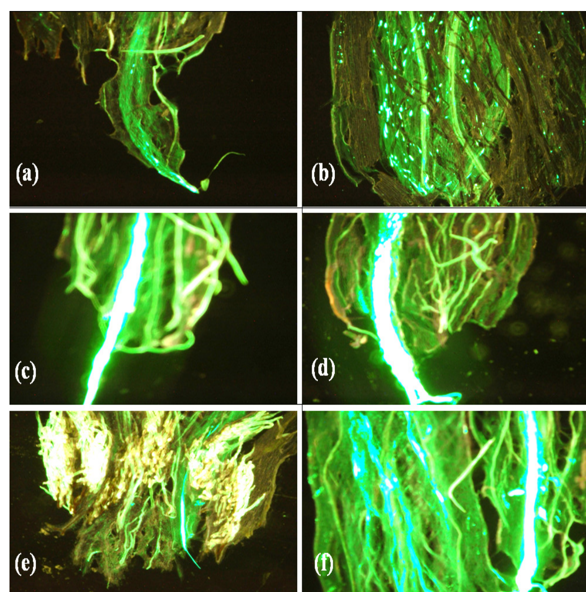
Fig. 9. Pollen tube growth stopped 120 after self-pollination in the middle third of style in pear cultivars KS6 (a), KS7 (b), KS10 (c) and KS11 (d)



شکل ۱۰-توقف رشد لوله گرده در یک سوم انتهایی خامه ارقام گلابی KS8 (a)، KS9 (b)، KS12 (c)، KS13 (d)، و (f) سبری و در یک سوم ابتدایی در (e) شاه‌میوه، ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی

Fig. 10. Pollen tube growth stopped at the lower third of the style of pear cultivars KS8 (a), KS9 (b),،KS12 (c), KS13 (d),،Sebri (f) and at the upper third of the style of Shahmiveh (e) 120 h after self-pollination

می‌گیرد، بنابراین تعیین اختلاف دقیق در تشکیل میوه در میان ارقام و تعیین خودناسازگاری، خصوصاً در درختان میوه که گل‌ها یک بار در سال باز می‌شوند مشکل است. ممکن است بعضی از میوه‌ها پس از لقاح در اثر عوامل فیزیولوژیکی ریزش کنند در حالی



شکل ۱۱- رسیدن لوله گرده به انتهای خامه، ۷۲ ساعت بعد از گرده افشانی در تلاقی های ارقام گلابی آسیایی (a) KS6♀ × KS13♂، (b) KS12♀ × KS6♂ و ۹۶ ساعت پس از گرده افشانی در تلاقی‌های (c) KS13♀ × KS6♂، (d) KS6♀ × 'KS12'♂، (e) KS12♀ × KS13♂ و KS13♀ × KS12♂ (f) (رقم سمت چپ رقم گیرنده گرده و رقم سمت راست دهنده دانه گرده است)

Fig. 11. Pollen tubes reached the base of styles 72 h after cross-pollination of Asian pear cultivars KS6 × KS13 (a), KS12× KS6 (b) and 96 h after cross-pollination KS13 × KS6 (c) ،KS6 × KS12 (d) ،KS12 × KS13 (e) و KS13 × KS12 (f), (left cultivars were pollinated with the right cultivars)

که برخی میوه‌ها در اثر پارتنوکارپی تشکیل می‌شوند. همچنین روش‌های گرده‌افشانی و اخته کردن می‌توانند در نتایج مؤثر باشند. بسیاری از محققان تشکیل میوه نهایی پس از ریزش‌های اولیه ناشی از ناسازگاری را در آزمایش‌های گرده‌افشانی مورد توجه و ارزیابی قرار می‌دهند (Nyéki and Soltesz, 1996). در این تحقیق نیز با تأکید بر تشکیل میوه‌دهی نهایی، برای مقایسه بهتر نتایج با تحقیقات انجام شده، درصد تشکیل میوه در مراحل اولیه و ثانویه رشد و نمو نیز ارائه شده بود. در آزمایش خودگرده‌افشانی اثر سال در شمارش دوم و سوم معنی‌دار شده است و در هر دو شمارش در سال اول بیشتر از سال دوم بود. چنین مشاهداتی احتمالاً به دلیل زیاد بودن سرعت رشد لوله گرده در سال اول نسبت به سال دوم بوده است. مقایسه وضعیت آب و هوایی در این دو سال نشان داد که با وجود گرم‌تر بودن هوا در سال دوم و بالاتر بودن دمای اسفند و فروردین در سال دوم، میانگین دما در روزهای انجام آزمایش و نمونه‌برداری در سال اول (۱۷/۵۳°C) بیشتر از سال دوم (۱۳/۱۵°C) بود. در آزمایش دگرگرده‌افشانی در شمارش نهایی اختلاف معنی‌داری در تشکیل میوه در سال اول با سال

دوم وجود نداشت. وجود چنین مشاهداتی احتمالاً به این دلیل است که در صورتی که دگرگرده‌افشانی انجام شود، اثر منفی محیطی بر رشد لوله گرده کاهش یافته و مقدار کافی میوه تشکیل می‌شود، چون در مجموع سرعت رشد لوله گرده سازگار بیشتر از سرعت رشد لوله گرده خودی و ناسازگار است (de Nettancourt, 1997).

در این پژوهش درصد تشکیل میوه در سه مرحله شمارش شد که به طور کلی میانگین درصد تشکیل میوه در تیمارهای خودگرده‌افشانی در شمارش اول ۹/۷۶، در شمارش دوم ۴/۳۷ و در شمارش سوم ۲/۹۸ درصد بود. از نظر درصد تشکیل میوه بین ارقام KS9، KS10، KS11، KS12، KS14 و سبری در دو سال آزمایش اختلاف معنی‌داری مشاهده شد به طوری که میزان تشکیل میوه در این ارقام در سال اول بیشتر از سال دوم آزمایش بود (شکل ۲). این افزایش تشکیل میوه احتمالاً مربوط به افزایش سرعت رشد لوله گرده به دلیل بالاتر بودن دمای هوا (Hiratsuka and Zhang, 2002) در روزهای انجام آزمایش در سال اول نسبت به سال دوم بود. در رقم KS6 برعکس سایر ارقام درصد تشکیل میوه در سال دوم آزمایش بیشتر از سال اول بود، این مسئله علاوه بر وجود خودناسازگاری و عوامل محیطی و نوسانات دمایی، ممکن است مربوط به وضعیت فیزیولوژیک درخت و پدیده سال‌آوری نیز باشد. بین درصد تشکیل میوه در شمارش اول با شمارش دوم و سوم اختلاف زیادی وجود داشت که به دلیل ریزش میوه‌های لقاح نیافته و در مرحله بعد به دلیل رقابت بین میوه‌های در حال رشد بود. در این آزمایش شدیدترین ریزش بین ۱۵ تا ۳۵ روز پس از تمام گل بود. در آزمایش انجام شده درصد تشکیل میوه در شمارش سوم در تیمارهای خودگرده‌افشانی از صفر درصد در رقم سبری تا ۷/۸۵ درصد در رقم KS9 متفاوت بود. نیکی و سولتز (Nyéki and Soltesz, 1996) ارقام سیب و گلابی را بر اساس میزان خودناسازگاری به سه دسته خودسازگار (بیش از ۱۰ درصد تشکیل میوه)، نیمه خودسازگار (۱۰-۶ درصد تشکیل میوه) و خودناسازگار (کمتر از ۵ درصد تشکیل میوه) تقسیم‌بندی کردند. برخی محققین تشکیل میوه کمتر از ۳۰ درصد را به عنوان خودناسازگاری در گلابی آسیایی در نظر گرفتند (Ishimizu *et al.,* 1999؛ Sato *et al.,* 1992). در گیلاس تشکیل میوه کمتر از ۳ درصد به عنوان خودناسازگاری و تشکیل میوه بیشتر از ۵ درصد به عنوان خودسازگاری در نظر گرفته می‌شود (Choi *et al.,* 2002). به نظر می‌رسد که این محققین تولید تجاری میوه را به عنوان معیار سنجش درنظر گرفته‌اند. با این حال، در این پژوهش تشکیل میوه کمتر از ۱/۵ درصد به عنوان خودناسازگاری و بیشتر از این مقدار به عنوان خودسازگاری در نظر گرفته شد، بنابراین

با توجه به نتایج حاصل از آزمایش خودگرده‌افشانی در شمارش سوم، ارقام سبری، شاه‌میوه، KS7 و KS13 خودناسازگار هستند چون تشکیل میوه در آن‌ها کمتر از ۱/۵ درصد بود. سایر ارقام به عنوان خودسازگار در نظر گرفته شدند. نتایج درصد تشکیل میوه نهایی در آزمایش خودگرده‌افشانی با نتایج حاصل ازمطالعات رشد لوله گرده پس از خودگرده‌افشانی ارقام گلابی با استفاده از میکروسکوپ فلورسنس، مطابقت نداشت، زیرا در هیچ یک از ارقام حتی ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی نیز لوله گرده به انتهای خامه نرسید. نتایج این پژوهش با نتایج موسوی و همکاران، (۲۰۱۲)مطابقت داشت، آن‌ها گزارش کردند که پس از خودگرده‌افشانی، ارقام KS7،KS13و شاه‌میوه کمترین میزان تشکیل میوه و رقم KS9 بیشترین میزان تشکیل میوه را داشتند. به طور کلی با توجه به مطالعاتی که تاکنون انجام شده، داده‌ها در مورد تشکیل میوه بعد از خودگرده‌افشانی در بین ارقام مختلف گلابی آسیایی متنوع بوده و از ۰/۶ تا ۱۵/۲ درصد گزارش شده است (Hiratsuka and Zhang, 2002). نتایج این آزمایش با نتایج سایر تحقیقات انجام شده در رابطه با تشکیل میوه بعد از خودگرده‌افشانی گلابی آسیایی از جمله گو و همکاران (Gu *et al.*, 2009) مطابقت می‌کند.

نتایج مطالعات دگرگرده‌افشانی هم نشان داد که درصد تشکیل میوه در شمارش اول زیاد بوده و بعد از آن تعداد زیادی از میوه‌ها ریزش کردند، به طوری که در شمارش سوم میانگین درصد تشکیل میوه ۱۴/۸۲ درصد بود. نتایج در شمارش سوم آزمایش دگرگرده‌افشانی نشان داد که تشکیل میوه در تلاقی‌های سه رقم KS6، KS12 و KS13 از ۸/۹۸ تا ۲۲/۲۳ درصد متفاوت بود. کمترین مقدار تشکیل میوه مربوط به گرده‌افشانی رقم KS12 با گرده‌های ارقام KS13 (۸/۹۸درصد) و KS6 (۹/۴ درصد) و بیشترین مقدار مربوط به گرده‌افشانی رقم KS6 با گرده رقم KS13 (۲۲/۲۳ درصد) بود. به طور کلی درصد تشکیل میوه در تیمارهای دگرگرده‌افشانی خیلی بیشتر از تیمارهای خودگرده‌افشانی بود. گرده‌افشانی رقم KS13 با گرده ارقام KS6 و KS12 و گرده‌افشانی رقم KS6 با گرده ارقام KS12 و KS13 و گرده‌افشانی رقم KS12 با گرده ارقام KS6 و KS13به عنوان تلاقی‌های سازگار در نظر گرفته شدند چون در همه این تلاقی‌ها تشکیل میوه بیشتر از ۱/۵ درصد بود.

با توجه به نتایج حاصل از مطالعات رشد لوله گرده به وسیله میکروسکوپ فلوئورسنس می‌توان نتیجه گرفت که ارقام KS6، KS12 و KS13 با یک‌دیگر سازگار هستند. زیرا در تلاقی‌های این ارقام با یک‌دیگر لوله‌های گرده حداکثر تا ۹۶ ساعت پس از گرده‌افشانی به انتهای خامه و تخمک رسیدندو این نتایج بیانگر افزایش تشکیل میوه در صورت دگرگرده‌افشانی این ارقام با یک‌دیگر بوده و نتایج حاصل از

آزمایش‌های مزرعه‌ای را تأیید کرد. بنابراین، در صورت احداث باغ‌های تجاری گلابی آسیایی با استفاده از ترکیبی از ارقام KS6، KS12 و KS13 ، میوه‌های بیشتری تولید خواهد شد نسبت به زمانی که تنها از یکی از ارقام مورد مطالعه در این تحقیق، استفاده شود.

سپاسگزاری

از مسئولین دانشگاه تربیت مدرس به خاطر فراهم کردن امکانات مالی و اجرایی این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از آقایان مهندس محمدمهدی عرب و مهندس ایمان رحمانی برای همکاری در انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

References

Alizadeh-Salteh, S., Arzani, K., and Imani, A. 2012. Self-incompatibility studies of some Iranian late-blooming almonds and pollen source effect on some characteristics of Nuts. Journal of Nuts 3: 37-44.

Austin, P., Hewett, E., Noiton, D., and Plummer, J. 1998. Self incompatibility and temperature affect pollen tube growth in 'Sundrop' apricot (*Prunus armeniaca* L.). Journal of Horticultural Science and Biotechnology 73: 375-386.

Bošković, R., Tobutt, K., Batlle, I., and Duval, H. 1997. Correlation of ribonuclease zymograms and incompatibility genotypes in almond. Euphytica 97: 167-176.

Broothaerts, W., Janssens, G. A., Proost, P., and Broekaert, W. F. 1995. cDNA cloning and molecular analysis of two self-incompatibility alleles from apple. Plant Molecular Biology 27: 499-511.

Choi, C., Tao, R., and Andersen, R. L. 2002. Identification of self-incompatibility alleles and pollen incompatibility groups in sweet cherry by PCR based S-allele typing and controlled pollination. Euphytica 123(1): 9-20.

de Nettancourt, D. 1997. Incompatibility in angiosperms. Sexual Plant Reproduction 10: 185-199.

Entani, T., Iwano, M., Shiba, H., Che, F. S., Isogai, A., and Takayama, S. 2003. Comparative analysis of the self-incompatibility (S-) locus region of *Prunus mume*: identification of a pollen-expressed F-box gene with allelic diversity. Genes to Cells 8: 203-213.

Gharehaghaji, A. N., Arzani, K., Abdollahi, H., Shojaeiyan, A., Dondini, L., and De Franceschi, P. 2014. Genomic characterization of self-incompatibility

ribonucleases in the Central Asian pear germplasm and introgression of new alleles from other species of the genus Pyrus. Tree Genetics and Genomes 10: 411-428.

Gharehsheykhbayat, R., Dondini, L., and Sansavini, S. 2011. Identification of self-incompatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) using multi-level approaches. Seed and Plant Improvement Journal 27-1 (3): 411-426 (in Persian).

Gu, Q.-Q., Zhang, Q.-L., Hu, H.-J., Chen, Q.-L., and Luo, Z.-R. 2009. Identification of self-incompatibility genotypes in some sand pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai.) by PCR-RFLP analysis. Agricultural Sciences in China 8: 154-160.

Hajilou, J., Garigurian, V., Mohammadi, S. A., Nazemieh, A., and Bergus, L. 2006. Pollen tube growth and fruit set percentage in two apricot cultivars under self- and cross-pollination conditions. Journal of Horticultural Science and Technology 7(3): 147-156 (in Persian).

Hiratsuka, S., and Zhang, S. L. 2002. Relationships between fruit set, pollen-tube growth, and S-RNase concentration in the self-incompatible Japanese pear. Scientia Horticulturae 95: 309-318.

Ishimizu, T., Inoue, K., Shimonaka, M., Saito, T., Terai, O., and Norioka, S. 1999. PCR-based method for identifying the S-genotypes of Japanese pear cultivars. Theoretical and Applied Genetics 98: 961-967.

Janssens, G., Goderis, I., Broekaert, W., and Broothaerts, W. 1995. A molecular method for S-allele identification in apple based on allele-specific PCR. Theoretical and Applied Genetics 91: 691-698.

Kao, T.-h., and Tsukamoto, T. 2004. The molecular and genetic bases of S-RNase-based self-incompatibility. The Plant Cell 16: S72-S83.

Kato, M., Kato, S., and Sassa, H. 2012. Polyacrylamide gel electrophoresis of S-RNase fragments for identification of S-genotypes of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). Breeding Science 62: 348.

Kaufmane, E., and Rumpunen, K. 2002. Pollination, pollen tube growth and fertilization in Japanese quince (*Chaenomeles japonica*). Scientia Horticulturae 94: 257-271.

Knox, R. B., Williams, E. G., and Dumas, C.1986. Pollen, pistil, and reproductive function in crop plants. Plant Breeding Reviews 4: 9-79 .

Mahmoudi, M., Arzani, K., and Bouzari, N. 2007. Pollination, pollen tube growth

and determination of suitable pollinizer for sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivar ‘Ghermez Rezaeieh’.Seed and Plant 23(3): 571-585 (in Persian).

McCubbin, A. G., and Kao, T.-h. 2000. Molecular recognition and response in pollen and pistil interactions. Annual Review of Cell and Developmental Biology 16: 333-364.

Milatović, D., and Nikolić, D. 2007. Analysis of self-(in) compatibility in apricot cultivars using fluorescence microscopy. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 82: 170-174.

Momenpour, A., Ebadi, A., Imani, A., and Rahimi, A. R. 2012. Effect of self and cross pollination on fruit quantity and quality in some self-compatible almond genotype. Journal of Plant Production 18(4): 73-89 (in Persian).

Mousavi, S., Arzani, K., and Abdollahi, H. 2012. Determination of self-compatibility and self-incompatibility of some Asian pear (*Pyrus serotine* Rehd.), European pear (*Pyrus communis* L.) and local pear cultivars. Iranian Journal of Horticultural Sciences 43(3): 311-321 (in Persian).

Nikolić, D., and Milatović, D. 2010. Examining self-compatibility in plum (*Prunus domestica* L.) by fluorescence microscopy. Genetika 42: 387-396.

Nyéki, J., and Buban, T. 1996. Pollination and fertilization. pp. 153-184. In: Nyéki, J., and Soltesz, M. (eds.) Floral Biology of Temperate Zone Fruit Trees and Small Fruit. Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary.

Nyéki, J., and Soltész, M. 1996. Floral Biology of Temperate Zone Fruit Trees and Small Fruits, Akadémiai Kiadó és Nyomda Vállalat, Budapest, Hungary.

Rasouli, M., and Arzani, K. 2010. Effect of pollen source on pollen tube growth and quantitative and qualitative traits of cherry (*Prunus avium*L.) cultivar ‘Zard daneshkade’. Iranian Journal of Horticultural Sciences 41(4): 309-318 (in Persian).

Rasouli, M., Arzani, K., Imani, A., and Fatahi moghaddam, M. R. 2010. Study of pollination compatibility of some Cherry cultivars with the cultivar ‘Zard Daneshkade’. Iranian Journal of Horticultural Sciences 41(2): 143-152 (in Persian).

Sassa, H., Hirano, H., and Ikehashi, H. 1992. Self-incompatibility-related RNases in styles of Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehd.). Plant and Cell Physiology 33: 811-814.

Sassa, H., Hirano, H., and Ikehashi, H. 1993. Identification and characterization of

stylar glycoproteins associated with self-incompatibility genes of Japanese pear, *Pyrus serotina* Rehd. Molecular and General Genetics (MGG) 241: 17-25.

Sato, Y., Abe, K., Saito, T., and Kotobuki, K. 1992. Selection of S-gene homozygotes and its utilization for S-genotype analysis of 'Osa-Nijisseiki'. Journal o0f the Japanese Society for Horticultural Sciences 61: 16-17.

Sharafi, Y., Hajilou, J., Mohammadi, A., and Dadpour, M. R. 2010. Analysis of compatibility relationships among some almond genotypes using fruit set and fluorescence microscopy. African Journal of Microbiological Research 4: 2079-2085.

Tomimoto, Y., Nakazaki, T., Ikehashi, H., Ueno, H., and Hayashi, R. 1996. Analysis of self-incompatibility-related ribonucleases (S-RNases) in two species of pears, *Pyrus communis* and *Pyrus ussuriensis*. Scientia Horticulturae 66: 159-167.

Ushijima, K., Sassa, H., Dandekar, A. M., Gradziel, T. M., Tao, R., and Hirano, H. 2003. Structural and transcriptional analysis of the self-incompatibility locus of almond: identification of a pollen-expressed F-box gene with haplotype-specific polymorphism. The Plant Cell 15: 771-781.

Zeraatgar, H., Davarinizhad, G., and Abdollahi, H. 2012. Determination of suitable pollinizer for som Iranian native pear cultivars. Seed and Plant Production Journal 28-2 (4): 435-448 (in Persian).

Zhang, L., Tan, X. F., Wuyun, T. N., Qiu, J., Yuan, D. Y., Wang, Q. R., Cao, Y. F., and Zhang, D. Q. 2007. Identification of new S-RNase alleles and S-genotype in two pear species (*Pyrus pyrifolia* and *P. bretschneideri*) grown in China by genomic PCR and pollination tests. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Sciences 35: 403-413.